

## Természetes és mesterséges hymatomelánsavak gerjesztéses fluoreszcencia színeképe

KUNAL GHOSH és S. K. MUKHERJEE

Kalkuttai Egyetem, Agrokémiái Tanszék, Kalkutta, India

SCHEFFER és WELTE [18] abszorpciós spektrofotometriás vizsgálatai az ultraibolya és látható tartományban, melyekkel a talaj (természetes) és a mesterséges humin-, fulvo- és hymatomelánsavak szerkezetét kívánták értelmezni, igen kevés hasznos információt szolgáltatottak, mivel a kapott színeképek jellegtelenek voltak, a hullámhossz növekedésével az abszorpció állandóan csökkent. A színeképből nem lehetett aromás szerkezet jelenlétére következtetni, de a 250–270 nm tartományban néhol egy kiugrás vagy lépcső jelent meg, mely valószínűleg a jelenlévő proteinnak tulajdonítható. A színekép nem-specifikus volta arra utal, hogy mind a talajból származó, mind pedig a szintetikus huminsavak molekulái — eltérő eredetük ellenére — azonos típusú  $\pi$ -elektron eloszlással rendelkeznek, és így a kromofór csoportok abszorpciója egymást átfedi.

Megfelelő frekvenciájú látható fénnel gerjesztett természetes (talaj) és mesterséges humin-, fulvo- és hymatomelánsavak látható — gyenge — fluoreszcenciáját számos kutató tanulmányozta, pl. HOCK [7], SOWDEN és DEUEL [20] és ROY [15]. KONONOVA [9] szerint a fluoreszkáló fény színe sárgástól sárgászöldig változik. JOHNSTON [8] azt állítja, hogy a humin savak oxidációs degradációjával nyert anyagok ultraibolya fényben fluoreszkálnak. SEAL et al. [19] és ROY [15] legújabb kutatásai azt mutatják, hogy az összes huminsav frakció zöld színben fluoreszkál, ha 365 nm hullámhosszú sugárzással gerjesztették, és az eredményekből arra következtettek, hogy a talajból származó humin- és fulvosavak emissziós maximuma 500–540 nm közé, a szintetikus huminsavaké 480–540 nm közé és a szintetikus fulvosavaké 460–500 nm közé kell hogy essen. A humin-, fulvo- és hymatomelánsavak emissziós színeképe igen hasonló, ami arra enged következtetni, hogy szerkezetük is igen közel esik egymáshoz. A fluoreszcencia relatív inzenzitása és maximumának átlagos hullámhossza szerint a savakat a következő sorrendbe lehetett állítani: huminsavak > hymatomelánsavak > fulvosavak.

Az oldószerek hatása a spektrális változásokra általában a dielektromos viselkedéssel magyarázhatók. De az oldószerek vagy úgy hathatnak, hogy az oldandó anyag ionizációs állapotát megváltoztatják, vagy pedig egyfajta szolvátot képeznek vele. Utóbbi években számos szerző, mint pl. NAKAKURA és BABA [13], CHANDRA és BASU [2], SANNIGRAHI és CHANDRA [16] és MATAGA et al. [10, 11] hangsúlyozta az oldandó anyag és oldószer között fennálló hidrogén-kötés hatását az ultraibolya, látható és fluoreszcencia színeképre. Ma már általánosságban elfogadott az, hogy a hidrogénkötés energiáját a következő energiák összegeként lehet kifejezni: (a) elektrosztatikus energia,

(b) diszperziós energia, (c) kicserélődési taszítóenergia és (d) delokalizációs energia, mely a proton akceptor és donor közötti elektron átvitelhez szükséges. A hidrogén-kötések hatása a szerves molekulák elektronikus színeképre két-féle típusú lehet. Az első típusnál a proton donorok, mint pl. fenolok, karbazolok stb.,  $\pi - \pi^*$  sávjai a proton akceptorokkal, pl. éterekkel, alkoholokkal stb., létrejövő hidrogén-kötések következtében nagyobb (hosszabb) hullámhosszak felé mozdulnak el. A másik típusnál a ketonok, aldehidek, pyridiazinok stb. abszorpciós vagy fluoreszcenciás sávjai (melyek  $n - \pi$  szingulet átmenetekből származnak) a proton donorokkal, mint pl. alkoholok, létrejövő hidrogénkötések következtében a kék szín felé tolódnak el. A hidrogénkötések létrejöttének befolyását az elektron átmenetre PIMENTEL [14] fogalmazza meg a Franck–Condon elv alapján. Az abszorpciónál létrejött frekvencia eltolódás egyenlő  $W_0 - W_1 + w$ , ahol  $W_0$  és  $W_1$  a hidrogénkötés létrejöttéhez szükséges energia az alap, ill. gerjesztett állapotban és  $w$  a Franck–Condon elvnek megfelelő gerjesztési energia.

Így tehát, ha egy tiszta szénhidrogén oldószerről, melynél az oldószer és az oldott anyag molekulái között hidrogénkötés nem jön létre, áttérnek egy másik oldószerre, pl. alkoholra vagy éterre, ahol már az oldott anyaggal hidrogénkötés képződik, MATAGA et al. [10, 11] a következő változások fellépését feltételezte.

Először is az emissziós és abszorpciós maximum azonos eltolódását figyelték meg. A gerjesztési színekép eltolódás nagysága közel azonos vagy kissé nagyobb az abszorpciós színeképénél. A kissé nagyobb mértékű eltolódás általában abból adódik, hogy a gerjesztett állapotban a hidrogénkötés stabilizálódik és ez főleg az elektronoknak az alapállapotból a gerjesztett állapotba való vándorlásának tudható be.

Másodszor a hidrogénkötés képződése hatással lehet a kiindulási anyag fluoreszcencia teljesítményére.

Végül a gerjesztett állapotban eltöltött idő alatt egy új és más egyen-súlyi állapotnak megfelelő hidrogénkötés létrejöttének lehetősége is fennáll.

### Vizsgált anyagok és módszer

A hymatomelán savat, a huminsavak alkoholban oldható frakcióját, négy tipikus indiai talajból nyertük. Ezeket nátrium-sókká alakítottuk át és a származási helyük szerint (Dehradun, Palampur, Jabbalpur és Baruipur) DRDN, PLPR, JBLP és BRPR jelekkel láttuk el.

A szintetikus humuszt katechinből perszulfátos oxidációval és polykondenzációval glicin (glykokoll) jelenlétében vagy anélkül állítottuk elő. A megfelelő nátrium-hymatomelanátokat *AN*-nel és *A*-val jelöltük.

Szintetikus humuszt glükózból is állítottunk elő sósavas polykondenzációval glicin jelenlétében vagy anélkül. Az így kapott nátrium-hymatomelanátokat *CN*-nel, ill. *C*-vel jelöltük.

A gerjesztési színekép méréseket Farrand-féle spektrofluorométerrel (Cat. 104244B. ser 173) végeztük. A vizsgálandó mintát egy 1 cm-es szilícium-cellába helyeztük. Az emissziós sugárzást 520 nm hullámhosszon rögzítettük, a gerjesztési sugárzás hullámhossza pedig 500 nm-től 220 nm-ig automatikusan változott. A színeképet egy regisztráló készülék írószerkezet segítségével

egy diagramban rajzolta fel, melynél a fluoreszcencia intenzitását tetszőleges skálán vettük fel.

Az összes nem-vizes oldószer, melyet a vizsgálathoz alkalmaztunk, E. Merck gyártmány volt. A továbbiakban ezeket még tisztítottuk, az alábbiakban leírt módon különösen ügyelve arra, hogy vízzel semmiképpen ne szennyeződjenek. A felhasznált karbamid BDH-gyártmány volt. A ciklohexánt

1. táblázat

**A hymatomelánsavak gerjesztési fluoreszcencia sávjainak hullámhossz maximumai különböző oldószerekben**

(1) Oldószer	(2) Gerjesztési fluoreszcencia sávok $\lambda_{\max}$ -ai nm-ben							
	(3) Különböző eredetű hymatomelánsavak							
	DRDN	PLPR	JBLP	BRPR	A	AN	C	CN
a) Víz	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 410 (s)	470 (w) 410 (s)
b) Ciklohexán kivonat vízben	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 410 (s)	470 (w) 410 (s)
c) Dietiléter kivonat vízben	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 410 (s)	470 (w) 410 (s)
d) Metanolos kivonat vízben	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 370 (s)	470 (w) 410 (s)	470 (w) 410 (s)
e) 5 M karbamid oldat	460 (s)	460 (s)	460 (s)	460 (s)	460 (w) 360 (s)	460 (w) 360 (s)	460 (w) 400 (s)	460 (w) 400 (s)
f) Ciklohexán	260 (m)	260 (m)	260 (m)	260 (m)	260 (m)	260 (m)	260 (m)	260 (m)
g) Dietiléter	360 (m)	360 (m)	360 (m)	360 (m)	360 (m)	360 (m)	360 (m)	360 (m)
h) Tetra- hydrofurán	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)
i) 1 : 4 Dioxán	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)
j) Methanol	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)
k) Etilalkohol	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)
l) n-Butanol	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)	370 (m)

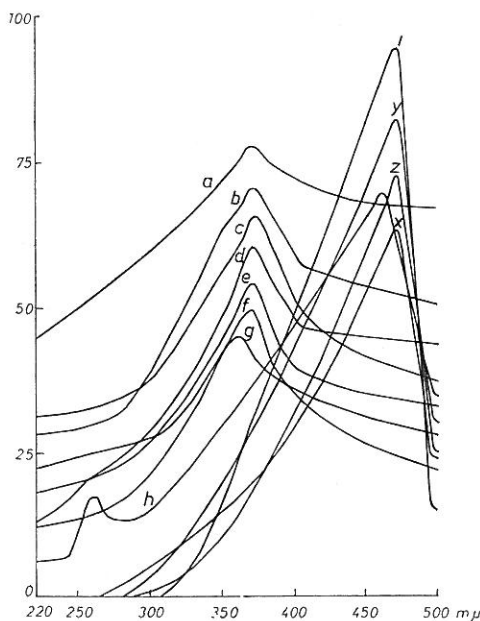
\* Relatív intenzitás: s = erős; m = közepes; w = gyenge

fém nátrium jelenlétében desztilláltuk és efelett is tároltuk. A dietilétert vasszulfáttal kezeltük és fém nátrium mellett kétszer ledesztilláltuk. A tetrahydrofuránt lítium-alumíniumhydriddel kezeltük és fém nátrium jelenlétében kétszer desztilláltuk. Az 1 : 4-dioxánt vasszulfáttal kezeltük, ledesztilláltuk, majd fém nátriumon át visszafolyattuk és újból ledesztilláltuk. Az összes éteres oldószert fém nátrium felett tároltuk. Az alkoholokat szilárd káliúgon eresztettük át, ledesztilláltuk és fém alumíniumpor jelenlétében újból ledesztilláltuk, végül bedugaszolva exsikkátorban tároltuk. A hymatomelánsav száraz sóit közvetlenül a színek felvétele előtt oldottuk fel az oldószerekben. A sók oldhatósága nem-vizes oldószerekben igen kismértékű (1. táblázat).

## Eredmények és értékelés

Bár a jelen tanulmány alapján a tényleges fluoreszkáló csoportot nem lehet meghatározni, de magából a fluoreszcencia jelenségéből BOWMAN et al. [1] alapján arra lehet következtetni, hogy a hymatomelánsavban vagy (a) egy legalább egy elektron leadó csoporttal szubsztituált aromás mag, vagy (b) egy nagyfokú rezonanciára képes konjugált rendszer van jelen. A talajból származó hymatomelánsav esetében az előbbi feltételezést az is alátámasztja, hogy a polymer oxidatív degradációja után számos aromás vegyületet sikerült izolálnia MORRISONNAK [12] és GREENE és STEELINKNEK [6]. JOHNSTON [8] azt tapasztalta, hogy ezek közül a vegyületek közül némelyek, melyek főleg poly-fenolok, fenolaldehidek és savak, ultraibolya fényben fluoreszkálnak és ebből ROY [15] arra következtetett, hogy az ezekből előállított szintetikus humusz is feltehetően fluoreszkálni fog. A glükóz-készítmény esetében a monomer nem fluoreszkál, de a polymer igen (ROY [15]). Ez a jelenség aromás szerkezet képződésével magyarázható, amire ESR-mérésekből is lehet következtetni (ROY [15]). (ESR-elektron-spin-rezonancia mérések.)

A fluoreszcencia meglehetősen gyenge. Ez mechanikus és/vagy szerkezeti tényezőknek tudható be (SEAL et al. [19]). Először is a molekulának nem a lehető legnagyobb része vesz részt az emissziós folyamatban. A minta nagy

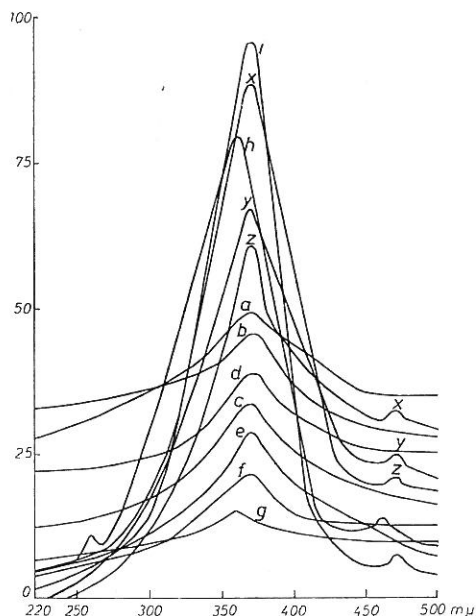


1. ábra

Természetes hymatomelánsav gerjesztési színe. (Jabalpuri talajból izolált természetes hymatomelánsav fluoreszcenciás adatai). Függőleges tengely: Fluoreszcencia intenzitása (tetszőlegesen felvett skála). Vízszintes tengely: Gerjesztési sugárzás hullámhossza  $m\mu$ -ban. Emissziós sugárzás hullámhossza:  $520 m\mu$ . X: ciklohexán kivonat vízben. Y: dietiléter kivonat vízben. Z: metanolos kivonat vízben. a) 1 : 4 dioxán. b) n-Butanol. c) Etilalkohol. d) Tetrahidrofuran. e) Dietiléter. f) Metanol. g) Ciklohexán. h) 5 M karbamid oldat. i) Víz.

koncentrációja koncentráció-kioltást okozhat. Másodszor a fluoroforok koncentrációja feltehetően csekély. Ismeretes, hogy a hidroxil-csoport fokozza az aromás vegyületek fluoreszkálását, míg a karboxil-csoport gyengíti azt. Ez a kioltó hatás akkor maximális, ha a karboxil-csoport a hidroxil-csoportéhoz képest para helyzetben helyezkedik el, és minimális akkor, ha orto helyzetben van. Harmadszor az N-heterociklikus vegyületekben jelenlevő, kötéseket nem képező elektronok belső kioltást okozhatnak. Negyedszer gyenge fluoreszkálást okozhat az is, ha a molekula flexibilis, mivel ismert tény, hogy a merev szerkezet kedvez a fluoreszcencia jelenségének. A természetes és mesterséges hymatomelánsavak polyelektrolit jellege, melyet GHOSH [4] viszkozitás mérésekkel mutatott ki, arra utal, hogy a molekulák bizonyos mértékben flexibilisek.

Az összes tanulmányozott természetes hymatomelán sav azonos jellegű színekkel rendelkezik (1. tábl. és 1. ábra). A szintetikus hymatomelánsavak, melyeket aromás és szénhidrogén vegyületekből állítottunk elő, a természetes anyagokhoz képest kissé eltolták a színekét, ami a különböző eredettel magyarázható (2. és 3. ábra). A nitrogén belépése a szintetikus hymatomelán savak molekuláiba, azaz  $-NH_2$ -csoportok, peptid-kötések és N-heterocyclusok képződése (ROY [15]) azonban semmiféle észrevehető változást nem okozott a spektrális tulajdonságokban. Az összes vízben oldott természetes és mesterséges hymatomelán sav eredetétől függetlenül egy jellegzetes gerjesztési sávot mutatott, melynek maximuma 470 nm-nél volt. De azok, amelyek aromás



2. ábra

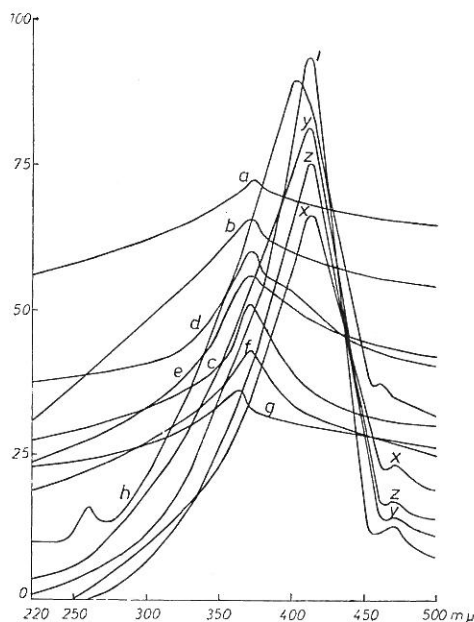
Katechinből és glicinből előállított szintetikus hymatomelán sav gerjesztési színe. Független tengely: Fluoreszcencia intenzitása (tetszőlegesen felvett skála). Vízszintes tengely: Gerjesztési sugárzás hullámhossza mμ-ben. Emissziós sugárzás hullámhossza: 520 mμ. Jelzéseket lásd 1. ábra

vegyületekből származtak még egy erősebb sávot adtak, melynek maximuma 370 nm-nél volt, és a szénhidrogénekből szintetizált anyagok is egyet, 410 nm-es maximummal.

Jól ismert tény, hogy a karbamid és thiokarbamid mind a molekulák közötti, mind pedig a molekulán belüli hidrogén-kötéseket felbontja (SARKAR és GHOSH [17]). GHOSH et al. [5] által talaj humuszsavaival végzett ESR-mérésekből arra lehetett következtetni, hogy 5 M karbamid-oldattal komplexképződés lép fel. Színeképeket vettünk fel, melyeknél 5 M karbamid-oldat volt az oldószer. A közönséges gerjesztésű sáv maximuma 470 nm-ről 460 nm-re tolódott el, a szénhidrogén eredetű vegyületek 410 nm-es maximuma 400 nm-re, az aromás eredetű vegyületek gerjesztési sávjának 370 nm-es maximuma pedig 360 nm-re csökkent. Az 5 M karbamid-oldatoknál, mind a természetes, mind pedig a mesterséges termékek esetében, egy új sáv jelent azonban meg, melynek maximuma 260 nm-nél volt. Ezek az eltolódások kapcsolhatók egy új karbamiddal képzett komplex keletkezésével, amint ezt már GHOSH et al. [5] is feltételezte.

Az összes nem-vizes és gondosan víztelenített oldószerben — amint ezt már említettük, a hymatomelán savak igen gyengén oldódnak. A színeképre az alkalmazott oldószertől függően egy 360–370 nm között levő maximum jellemző. Ez többé-kevésbé egybeesik a vizes oldatban megfigyelt maximummal, mely az aromás vegyületek emissziós sávjának felel meg.

Hogy ezek a színeképsávok megfelelnek azoknak, melyeket vizes oldatban lehet kapni, azzal is bizonyítható, hogy a nem-vizes oldószer elűzése után



3. ábra

Glükózból és glicerinből előállított szintetikus hymatomelánsav gerjesztési színe. Függőleges tengely: Fluoreszcencia intenzitása (tetszőlegesen felvett skála). Vízszintes tengely: Gerjesztési sugárzás hullámhossza  $m\mu$ -ban. Emissziós sugárzás hullámhossza: 520  $m\mu$ . Jelzéseket lásd 1. ábra

vizes oldatban tanulmányozták a hymatomelánsavak színeképét és ez meg-  
egyezett a metilalkoholos, dietiléteres és ciklohexános oldatok esetében  
kapott színeképekkel.

A ciklohexánban oldott hymatomelánsavak egy különálló gerjesztési  
sávot adnak, melynek maximuma 360 nm-nél van. Feltételezhető, hogy ebben  
az oldószerben a fluoroforok nem hidrogénkötésben vannak. Ha az oldószert  
egy alkoholra vagy egy éterre cseréljük ki, akkor a maximumnak egy vörös  
felé való eltolódása (370 nm-re) figyelhető meg. MATAGA et al. [10, 11] arra  
következtettek, hogy az éterek általában proton-akceptorokként hatnak a  $\pi$ -  
elektron rendszereknél, ahol elektron-átmenet játszódik le, míg az alkoholok  
a  $\pi$ -elektron rendszerek esetében proton-akceptorok is lehetnek, amikor  
 $\pi-\pi^*$ -elektron átmenetről van szó, de N-heterociklusoknál,  $n-\pi^*$  átmenet-  
ek esetén proton-donorként szerepelnek. Mivel azonban csak egy vörös felé  
való eltolódást figyeltek meg, feltehető, hogy az alkoholok és éterek a  $\pi$ -elek-  
tron rendszerrel szemben proton-akceptorokként viselkedtek. Így tehát a fluoro-  
forok szerkezete nem-vizes oldószerekben igen hasonló a fenolokhoz, karbazo-  
lokhoz stb. és feltehetően nem N-t tartalmazó csoport. Ezt a következtetést  
az a tény is alátámasztja, hogy nemcsak a nitrogénmentes készítmények tol-  
ják el a színeképet a nagyobb hullámhosszak felé, hanem a nitrogént tartal-  
mazó, ill. nem tartalmazó aromás vegyületekből előállított hymatomelán  
savak is egy igen határozott gerjesztési vonalat adnak 370 nm-nél vizes  
oldatban.

A hidrogénkötés energiája 1—7 kcal kötésenként ( $350-2500\text{ cm}^{-1}$ ).  
Ebből PIMENTEL [14] arra következtetett, hogy a vörös felé való eltolódás  
sohasem érheti el a  $W_0$ -értéket (Franck—Condon elv), vagyis sohasem lehet  
nagyobb, mint  $2500\text{ cm}^{-1}$ . Kísérletünkben a megfigyelt eltolódás  $750\text{ cm}^{-1}$   
nagyságú volt, ami a fenti határon belül esik.

Köszönetet mondunk Prof. B. N. Ghosh, nyugalmazott kémia-professzornak  
(Kalkuttai Egyetem), Dr. K. K. Rohatgi-Mukherjee kémia előadónak (Jadavpuri Egye-  
tem) és Dr. B. K. Nathnak (Kalkutta-32) a szükséges laboratóriumi eszközök rendelke-  
zésre bocsátásáért.

### Összefoglalás

Négy természetes és négy szintetikus hymatomelán savat jellemeztünk  
vizes, nem-vizes és 5 M karbamidos oldataikkal kapott gerjesztéses fluoresz-  
cencia színeképek alapján. Az 5 M karbamidos oldattal kapott színeképből egy  
karbamiddal képződött komplexre lehet következtetni. Nem-vizes közegben  
bizonyítékok vannak arra, hogy az oldószer és az oldandó anyag között hidro-  
génkötések lépnek fel és a fluorofor csoportok aromás szerkezetűek.

### Irodalom

- [1] BOWMAN, R. L., UDENFRIEND, S. & CAULFIELD, P. A.: Spectrophotofluorometric  
assay in the visible and ultraviolet. Science, **122**, 32, 1955.
- [2] CHANDRA, A. K. & BASU, S.: Studies on hydrogen bonds. Part I. Trans. Farad.  
Soc. **56**, 632, 1960.
- [3] COULSON, C. A.: The hydrogen bond — review of the present position. Research,  
**10**, 149, 1957.



- [4] GHOSH, KUNAL: Physicochemical investigations on natural and synthetic hymatomelanic acids. Ph. D. Thesis. Calcutta University. 1970.
- [5] GHOSH, P. K., GUPTA, P. G. & PAL, P. K.: E S R observation on a humic acid and its additive compound with urea. *Technology (Sindri, India)*. **3**. 156. 1966.
- [6] GREENE, G. & STEELINK, C.: Structure of soil humic acid. II. Some copper oxidation products. *J. Org. Chem.* **27**. 170. 1962.
- [7] HOCK, A.: Farbtiefe und Farbtonwerte als charakteristische Kennzeichen für Humusform und Humustyp im Boden nach neuen Verfahren. *Bodenk. PflErnährung*. **5**. 1. 1937.
- [8] JOHNSTON, H. H.: Soil organic matter II. Studies on the origin and chemical structure of soil humic acids. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **25**. 32. 1961.
- [9] KONONOVA, M. M. & TITOVA, N. A.: Primenenie elektroforeza na bumage dlja frakcionija gumuszovih vsesesztv pocsü i izusenija ih kompleksznih szoedinenij sz zselezom. *Pocsvovedenie*. (11). 81. 1961.
- [10] MATAGA, N., KAIFU, Y. & KOIZUMI, M.: Hydrogen bonding effect on the fluorescence of  $\pi$ -electron systems. *Bull. Chem. Soc. (Japan)*. **29**. 115. 1956.
- [11] MATAGA, N., KAIFU, Y. & KOIZUMI, M.: On the base strength of some nitrogen heterocycles in the excited state. *Bull. Chem. Soc. (Japan)*. **29**. 373. 1956.
- [12] MORRISON, R. L.: The alkaline nitrobenzene oxidation of soil organic matter. *J. Soil Sci.* **9**. 130. 1958.
- [13] NAGAKURA, S. & BABA, H.: Dipole moments of near U.V. absorption of some unsubstituted benze. *J. Amer. Chem. Soc.* **74**. 5693. 1952.
- [14] PIMENTEL, G. C.: Hydrogen bonding and electronic transitions: The role of Franck-Condon principle. *J. Amer. Chem. Soc.* **79**. 3323. 1957.
- [15] ROY, K. B.: Studies on synthetic humus. Ph. D. Thesis. Calcutta University. 1965.
- [16] SANNIGRAHI, A. B. & CHANDRA, A. K.: Hydrogen bonding effect on the electronic absorption of some secondary amines. *J. Phys. Chem.* **67**. 1106. 1963.
- [17] SARKAR, A. & GHOSH, KUNAL: Molecular Association in Polyethyleneglycols. *Kolloid Z. & Z. Polymere*. **236**. 140. 1970.
- [18] SCHEFFER, F. & WELTE, E.: Problems of Humus Research. *Naturwissenschaften*. **37**. 321. 1950.
- [19] SEAL, B. K., ROY, K. B. & MUKHERJEE, S. K.: Fluorescence emission spectra and structure of humic and fulvic acids. *J. Indian Chem. Soc.* **41**. 212. 1964.
- [20] SOWDEN, F. J. & DEUEL, H.: Fractionation of fulvic acids from the B horizon of a podzol. *Soil Sci.* **91**. 44. 1961.

Érkezett: 1971. szeptember 30.

## Fluorescence Excitation Spectra of Natural and Synthetic Hymatomelanic Acids

KUNAL GHOSH and S. K. MUKHERJEE

Department of Agricultural Chemistry, Calcutta University, Calcutta (India)

### Summary

Four natural and four synthetic hymatomelanic acids are characterised by their fluorescence excitation spectra in aqueous, nonaqueous and 5 M urea solutions. The spectra in 5 M urea solution suggests the formation of a complex with urea. In nonaqueous solutions, there are evidences of solute-solvent hydrogen bonding and the aromatic nature of the fluorophore.

*Table 1.* Wavelength maxima of fluorescence excitation bands of hymatomelanic acids in different solvents. (1) Solvent. *a*) Water. *b*) Cyclohexane extract in water. *c*) Diethyl ether extract in water. *d*) Methanol extract in water. *e*) 5 M Urea. *f*) Cyclohexane. *g*) Diethyl ether (EtOEt). *h*) Tetrahydrofuran (THF). *i*) 1 : 4 Dioxane. *j*) Methanol (EtOH). *k*) Ethanol (EtOH). *l*) n-Butanol (n-BuOH). (2)  $\lambda_{\max}$  of fluorescence excitation bands in nm. (3) Hymatomelanic acids of different soils. \* = Relative intensity: s = strong; m = moderate; w = weak.



*Fig. 1.* Fluorescence excitation spectra of a natural hymatomelanic acids, isolated from Jabbalpur soils. Vertical axis: Intensity of fluorescence (Arbitrary scale). Horizontal axis: Wavelength of excitation radiation in  $m\mu$ . Wavelength of emission radiation: 520  $m\mu$ . X: Cyclohexane extract in water. Y: Et. O. Et (Diethyl ether) extract in water. Z: Methanol extract in water. *a)* 1 : 4 Dioxane. *b)* n-Butanol. *c)* Ethanol. *d)* Tetrahydrofuran. *e)* Diethyl ether. *f)* Methanol. *g)* Cyclohexan. *h)* 5 M Urea. *i)* Water.

*Fig. 2.* Excitation spectra of a synthetic hymatomelanic acid prepared from catechol and glycine. Vertical axis: Intensity of fluorescence (Arbitrary scale). Horizontal axis: Wavelength of excitation radiation in  $m\mu$ . Wavelength of emission radiation: 520  $m\mu$ . Signs: see Fig. 1.

*Fig. 3.* Excitation spectra of a synthetic hymatomelanic acid prepared from glucose and glycine. Vertical axis: Intensity of fluorescence (Arbitrary scale). Horizontal axis: Wavelength of excitation radiation in  $m\mu$ . Wavelength of emission radiation: 520  $m\mu$ . Signs: see Fig. 1.

## Fluoreszenzanregungsspektren von natürlichen und synthetischen Hymatomelansäuren

KUNAL GHOSH und S. K. MUKHERJEE

Lehrstuhl für Agrochemie, Universität zu Kalkutta, Kalkutta (Indien)

### Zusammenfassung

Vier natürliche und vier synthetisch hergestellte Hymatomelansäuren wurden an Hand der mit ihren wässrigen, nicht-wässrigen und 5 M Harnstoff-Lösungen gewonnenen Fluoreszenzanregungsspektren charakterisiert. Das mit der 5 M Harnstofflösung erhaltene Spektrum spricht für das Entstehen einer mit Harnstoff gebildeten Komplexverbindung. Es liegen auch dafür Beweise vor, dass in nicht-wässriger Substanz zwischen dem Lösungsmittel und dem zu lösenden Stoff H-Bindungen auftreten und die Fluorophor-Gruppen von aromatischer Struktur sind.

*Tab. 1.* Wellenlängenmaxima der Fluoreszenzbanden der Hymatomelansäuren in verschiedenen Lösungsmitteln. (1) Lösungsmittel. *a)* Wasser. *b)* Cyclohexan-Auszug in Wasser. *c)* Diäthyl-äther-Auszug in Wasser. *d)* Methanol-Auszug in Wasser. *e)* 5 M Harnstoff-Lösung. *f)* Cyclohexan. *g)* Diäthyl-äther. *h)* Tetrahydrofuran. *i)* 1 : 4 Dioxan. *j)* Methanol. *k)* Äthylalkohol. *l)* n-Butanol. (2)  $\lambda_{\max}$ -Werte der Fluoreszenzbanden in nm. (3) Hymatomelansäuren verschiedener Abstammung. \* = relative Intensität: s = stark; m = mittelmässig; w = schwach.

*Abb. 1.* Fluoreszenzspektrum von einer natürlichen Hymatomelansäure. (Angaben von aus einem Jabbalpur-Boden isolierter Hymatomelansäure). Abscisse: Intensität der Fluoreszenz (willkürlich aufgenommene Skala). Ordinate: Wellenlänge der Anregungsstrahlung in  $m\mu$ . Wellenlänge der Emissionsstrahlung: 520  $m\mu$ . X: Cyclohexan-Auszug in Wasser. Y: Diäthyl-äther-Auszug in Wasser. Z: Methanol-Auszug in Wasser. *a)* 1 : 4 Dioxan. *b)* n-Butanol. *c)* Äthylalkohol. *d)* Tetrahydrofuran. *e)* Diäthyl-äther. *f)* Methanol. *g)* Cyclohexan. *h)* 5 M Harnstofflösung. *i)* Wasser.

*Abb. 2.* Fluoreszenzspektrum von aus Katechin und Glycin hergestellter synthetischer Hymatomelansäure. Abscisse: Intensität der Fluoreszenz (willkürlich aufgenommene Skala). Ordinate: Wellenlänge der Anregungsstrahlung in  $m\mu$ . Wellenlänge der Emissionsstrahlung: 520  $m\mu$ . Bezeichnungen s. in Abb. 1.

*Abb. 3.* Fluoreszenzspektrum von aus Glukose und Glycin hergestellter synthetischer Hymatomelansäure. Abscisse: Intensität der Fluoreszenz (willkürlich aufgenommene Skala). Ordinate: Wellenlänge der Anregungsstrahlung in  $m\mu$ . Wellenlänge der Emissionsstrahlung: 520  $m\mu$ . Bezeichnungen s. in Abb. 1.

# Спектр индуктивной флуоресценции естественных и синтетических гиматомелановых кислот

КУНАЛ ГОШ и С. К. МУКХЕРЖЕ

Калькуттский Университет, Агрономический факультет, Калькутта (Индия)

## Резюме

Охарактеризовали четыре естественных и четыре синтетических гиматомелановых кислоты на основании спектров индуктивной флуоресценции, полученных водными, безводными и 5 М карбамидными растворами. На основании спектра, полученного 5 М карбамидным раствором можно сделать заключение об образовании комплекса с карбамидом. Есть подтверждение тому, что в безводной среде между растворителем и растворимым веществом проявляются водородные связи и ароматические структуры флуорофорных групп.

*Табл. 1.* Максимумы длины волны диапазонов индуктивной флуоресценции гиматомелановых кислот в различных растворителях. (1) Растворитель. а) Вода. б) Вытяжка циклогексана в воде. с) Вытяжка диэтил-эфира в воде. д) Метанольная вытяжка в воде. е) Раствор 5 М карбамида. ф) Циклогексан. г) Диэтил-эфир. h) Тетрагидрофуран. i) 1 : 4 Диоксан. j) Метанол. к) Этиловый спирт. l) n-Бутанол. (2)  $\theta$  max. Зоны индуктивной флуоресценции в nm. (3) Гиматомелановые кислоты различного происхождения. \* = Относительная интенсивность: S = сильная; m = средняя; w = слабая.

*Рис. 1.* Спектр индуктивной флуоресценции естественных гиматомелановых кислот (данные по флуоресценции естественной гиматомелановой кислоты, выделенной из почв Яббалпури). По вертикальной оси: интенсивность флуоресценции (произвольно взятая шкала). По горизонтальной оси: длина волны в  $m\mu$  индуктивного излучения. Длина волн эмиссионного излучения: 520  $m\mu$ . X: вытяжка циклогексана в воде. Y: вытяжка диэтилового эфира в воде. Z: метаноловая вытяжка в воде. а) 1 : 4 диоксан. б) n-Бутанол. с) этиловый спирт. d) тетрагидрофуран. е) диэтиловый эфир. f) Метанол. г) Циклогексан. h) Раствор 5 М карбамида. i) Вода.

*Рис. 2.* Спектр индуктивной флуоресценции синтетической гиматомелановой кислоты, полученной из катехина и глицина. По вертикальной оси: интенсивность флуоресценции (произвольно взятая шкала). По горизонтальной оси: длина волны индуктивного излучения в  $m\mu$ . Длина волн эмиссионного излучения: 520  $m\mu$ . Обозначения смотри на рисунке 1.

*Рис. 3.* Спектр индуктивной флуоресценции синтетической гиматомелановой кислоты, полученной из глюкозы и глицина. По вертикальной оси: интенсивность флуоресценции (произвольно взятая шкала). По горизонтальной оси: длина волн индуктивного излучения в  $m\mu$ . Длина волн эмиссионного излучения: 520  $m\mu$ . Обозначения смотри на рис. 1.